Aus dem Institut für Hygiene der Universität Düsseldorf
und dem Medizinischen Institut für Lufthygiene und
Silikoseforschung an der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. med. Hans-Werner Schlipköter

Abteilung für Experimentelle Pathologie
Leiter: Professor Dr. med. Werner Hilscher

AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR KINETIK DER FETALEN WANDZELLEN IM RATTENTESTIS

AN DEN TAGEN 16.5 BIS 17.0 POST CONCEPTIONEM

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
KARL-JOSEF SCHMITT

1982

Aus dem Institut für Hygiene der Universität Düsseldorf
und dem Medizinischen Institut für Lufthygiene und
Silikoseforschung an der Universität Düsseldorf
Direktor: Professor Dr. med. Hans-Werner Schlipköter

Abteilung für Experimentelle Pathologie
Leiter: Professor Dr. med. Werner Hilscher

AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR KINETIK DER FETALEN WANDZELLEN IM RATTENTESTIS AN DEN TAGEN 16.5 BIS 17.0 POST CONCEPTIONEM

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
KARL-JOSEF SCHMITT

1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf
gez.: Prof. Dr. med. Arnold

Referent
gez.: Prof. Dr. med. W. Hilscher

Koreferent
gez.: Prof. Dr. med. N. Hofmann

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Material und Methodik	5
Resultate	10
Diskussion	12
Zusammenfassung	14
Literatur	15

Legenden
zu den Abbildungen, Tabellen und Figuren

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535714_0143

Einleitung

Aus den "primitiven Wandzellen", mesenchymalen Zellen in den Gonaden anlagen männlicher Keimlinge von Mensch und Säugetier, entstehen das spätere boundary tissue (Grenzgewebe), im deutschen Schrifttum auch Lamina propria genannt, und wahrscheinlich auch das peritubuläre Leydigzellsystem, zumindest Teile desselben (Goslar et al. 1980). Die primitiven Wandzellen grenzen die entstehenden Keimstränge - sex cords - gegen das Interstitium ab. Bei der Ratte sind die ersten Wandzellen am 15. Tag post conceptionem (p.c.) nachweisbar. Ihr Proliferationsmodus wurde u.a. von Lippers (1973), Eigel (1974), Hemmerling und Odendahl (1976) sowie von Rehme (1978) untersucht. Über den zeitlichen Verlauf des Mitose-Index zwischen den Tagen 17 bzw. 18 p.c. und dem Tag 5 post natum (p.n.) haben Lippers, Eigel und Rehme berichtet. Rehme hat in den Figuren 10 und 11 seiner Arbeit (Abb. 1 und 2) die Ergebnisse von Lippers, Eigel und seine eigenen Resultate zusammengestellt. Aus den Untersuchungen der drei Autoren geht hervor, daß der kleine Mitose-Index (späte Prophasen, Metaphasen, Anaphasen und Telophasen) bei etwa 1 % liegt und der große Mitose-Index (frühe Prophasen, späte Prophasen, Metaphasen, Anaphasen, Telophasen und Rekonstruktionsphasen) bei etwa 1,5 %.

Eigel (1974) führte neben Bestimmungen des kleinen

und großen Mitose-Index der Wandzellen auch autoradiographische Untersuchungen durch. Er bestimmte den ^{3}H-Markierungs-Index, der den Prozentsatz DNS-synthetisierender Zellen einer Zellart angibt, bei 0 bis 5 Tagen alten Ratten und fand Werte zwischen 17 und 27 %. Ferner wandte er drei verschiedene autoradiographische Verfahren zur Bestimmung der S-Phasen-Dauer der Wandzellen der von ihm untersuchten Jungtiere an. Zur Anwendung kamen
(1) die Doppelmarkierungsmethode mit "schwach" und "stark" ^{3}H-Thymidin,
(2) die Doppelmarkierungsmethode mit ^{14}C- und ^{3}H-Thymidin sowie
(3) die Methode der markierten Mitosen (Abstand-Halbe-Höhe-Verfahren).
Die mit Methode (1) gewonnenen Werte betrugen 10,9 Std unmittelbar p.p., 11,3 Std einen Tag p.p., 10,4 Std zwei Tage p.p., 11,0 Std drei Tage p.p., 12,4 Std vier Tage p.p. und 13,8 Std fünf Tage p.p.. Der mit Methode (2) errechnete Wert - fünf Tage p.p. - betrug etwa 10,4 Std, und der mit Methode (3) bestimmte Wert - gleichfalls fünf Tage p.p. - lag bei etwa 11,8 Std. In den Figuren 15 und 16 seiner Arbeit (Abb. 3 und 4) sind die Resultate seiner autoradiographischen Untersuchungen niedergelegt.

In einer weiteren Arbeit über die Kinetik der Wandzellen haben Hemmerling und Odendahl (1976) Zählungen der Wandzellen pro Keimstrangquerschnitt, Bestimmungen des Mitose-Index und des ^{3}H-Markierungs-

Index durchgeführt sowie die S-Phasen-Dauer der Wandzellen bestimmt. Ihre an den Gonaden von Rattenfeten durchgeführten Untersuchungen , die am Tag 20 p.c. getötet worden waren, ergaben, daß (1) einen Keimstrangquerschnitt zwischen 9,1 und 11,3 innere und zwischen 12,1 und 17,4 äußere Wandzellen umgeben,
(2) der große Mitose-Index der Wandzellen, bezogen auf alle, also innere und äußere Wandzellen, bei einem Wert von etwa 2,2 % liegt und
(3) der Mitose-Index der inneren Wandzellen deutlich höher liegt als der der äußeren Wandzellen.
Am 18., 19. und 20. Fetaltag durchgeführte autoradiographische Untersuchungen zur Bestimmung der S-Phasen-Dauer der Wandzellen deuteten darauf hin, daß die S-Phasen-Dauer der Wandzellen pränatal wesentlich kürzer ist als postnatal. Die nach der Methode der Doppelmarkierung mit ^{14}C- und ^{3}H-Thymidin sowie mit "schwach" und "stark" ^{3}H-Thymidin gewonnenen Werte wiesen auf eine S-Phasen-Dauer in der Größenordnung zwischen 5 und 7 Stunden hin. Sie würde demnach nur halb so lang sein wie die S-Phasen-Dauer der postnatal proliferierenden Wandzellen, die nach Eigel (1974) etwa 11,5 Std beträgt. Demgegenüber fand Lugani-Mehta (1980), die die S-Phasen-Dauer der Wandzellen mit Hilfe der Methode der markierten Mitosen (Quastler und Sherman 1959) bestimmte, am 19. Fetaltag einen Wert von 9,2 Std.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, mit Hilfe

einer modifizierten Methode der markierten Mitosen die S-Phasen-Dauer der Wandzellen zwischen den Tagen 16,5 und 17,0 p.c. zu bestimmen. Dieses Verfahren war bereits von Nebel (1979) und Brandenbusch (1980) angewandt worden, um die S-Phasen-Dauer der fetalen Leydigzellen sowie der fetalen weiblichen und männlichen Geschlechtszellen zu gewinnen.

Material und Methodik

Das Untersuchungsmaterial bestand aus den Gonaden männlicher Feten einer Versuchsserie, die von Brandenbusch (1980) unter einer anderen Fragestellung ausgewertet worden war.

Als Muttertiere dienten 7 Wistarratten (W.U.) der am Institut für Lufthygiene und Silikoseforschung der Universität Düsseldorf gezogenen Inzuchtlinie Müller/Haan. Die benötigten Rattenfeten waren auf folgende Weise gewonnen worden:

Zwei Männchen wurden nachmittags um $15^{\underline{00}}$ h in einen Käfig zu zwei bis sechs gleich schweren Weibchen gesetzt. Am Morgen des folgenden Tages, des "ersten Trächtigkeitstages", wurden die Weibchen in der Zeit von $8^{\underline{00}}$ h bis $9^{\underline{00}}$ h gewogen und in Einzelkäfigen untergebracht.

Den Graviditätsnachweis erbrachten Gewichtskurven, denen man die Meßdaten vom 5., 10. und 15. "Trächtigkeitstag" zugrundelegte. Gegenüber den nicht graviden Tieren stellt man bei den erfolgreich gedeckten, trächtigen Ratten eine signifikante Gewichtszunahme fest. Einen zusätzlichen Graviditätsnachweis erbrachte die am 12. Trächtigkeitstag durchgeführte Palpation der Feten durch die Bauchdecke des Muttertieres.

Vor der Tötung der trächtigen Weibchen am 17. Träch-

tigkeitstag um $12^{\underline{00}}$ h mittags hatten die Tiere eine einmalige i.p. Injektion mit ^{3}H-Thymidin erhalten (2mCi ^{3}H-Thymidin/300 g Ratte, spez. Aktivität 5 Ci/mMol). Das ^{3}H-Thymidin war in einem Zeitabschnitt von 14 bis 2 Stunden vor der Tötung injiziert worden; die Injektionsintervalle betrugen 2 Stunden, so daß insgesamt an 7 Terminen vor der Tötung injiziert worden war.

Die dem Uterus entnommenen Feten wurden in Bouin'scher Lösung fixiert und in Kopf, Thorax- und Abdominalsegment geteilt. Von den in Paraplast eingebetteten Abdominalsegmenten stellte man 5 µ dicke Serienschnitte her.

Darauf erfolgte die Herstellung der Autoradiogramme, bei denen Ilford K2-Emulsion - 1:2 mit Aqua dest. verdünnt - verwandt wurde. Die Autoradiogramme wurden durch die Emulsion hindurch mit Hämalaun gefärbt.

Anhand dieser Autoradiogramme kamen die rechte und die linke Gonade von je zwei bis drei männlichen Feten pro Injektionstermin zur Auswertung.

Es wurde der Prozentsatz markierter Wandzellmetaphasen pro Injektionstermin bestimmt. Von jedem Feten wurden insgesamt 100 Metaphasen ausgewertet, d.h. daraufhin untersucht, ob sie markiert waren oder nicht. Es wurde ferner zwischen inneren und äußeren Metaphasen unterschieden. Auf diese Weise

konnte die S-Phasen-Dauer getrennt für beide Wandzellenfraktionen angegeben werden, innere und äußere. Zahlenmäßig umfaßte die Untersuchung 19 Feten bzw. 38 Gonaden.

Eine positive Markierung der Wandzellmetaphasen wurde dann angenommen, wenn über der ausgewerteten Metaphase vier und mehr "Silberkörner" lagen.

Diese relativ hohe Silberkornzahl pro Zelle als Markierungskriterium wurde gewählt, um mit Sicherheit eine "Pseudomarkierung" auszuschließen. Eine solche "Pseudomarkierung" kann einmal bedingt sein durch die Qualität der verwendeten Emulsion, die Handhabung bei der Herstellung der Autoradiogramme und durch Höhenstrahlung - man spricht von "background" oder "Nulleffekt" des Autoradiogramms - zum anderen durch "impurities". Unter "impurities" versteht man die durch Selbstradiolyse entstandenen Metabolite des ^{3}H-Thymidins, die im Zytoplasma der Zelle eingelagert werden; diese können sich unter Umständen in Kernnähe lokalisieren und eine positive Markierung vortäuschen.

Bei der Auswertung der Autoradiogramme wurde nach der Methode der markierten Mitosen (genauer: der markierten Meta- und Anaphasen) verfahren (Quastler und Sherman 1959).

Während ihrer Lebensdauer (Generationszeit) durchläuft eine proliferierende Zelle verschiedene

Phasen des Zellzyklus. Durch die Mitose ihrer Mutterzelle aus dieser hervorgegangen, macht sie zunächst die 1. Ruhepause oder G1-Phase (post-mitotic gap) durch, dann durchläuft sie die DNS-Synthesephase oder S-Phase und darauf die 2. Ruhepause oder G2-Phase (premitotic gap), sie tritt dann ihrerseits in die Mitose M; aus ihr gehen wieder zwei neue Tochterzellen hervor.

Die Markierung mit ^{3}H-Thymidin erfolgt nur in der S-Phase. Anhand von Abb. 5 und 6 soll nun die Methode der markierten Mitosen näher erläutert werden:

Als Beispiel sollen die in der S-Phase markierten A_1-Spermatogonien dienen (Hilscher, W. 1966). Zunächst injizierte man einer Gruppe von Ratten eine einmalige Dosis von 500 µCi ^{3}H-Thymidin/Tier. Die Versuchstiere wurden in verschiedenen Abständen bis zu 80 Stunden getötet; von den Testes wurden Autoradiogramme hergestellt. Die Auswertung der Autoradiogramme ergab eine Kurve (Abb. 6), die den zeitlichen Verlauf der Prozentsätze markierter Mitosen wiedergibt. Der Kurvenverlauf spiegelt die Wanderung der in der S-Phase markierten A_1-Spermatogonien und deren Descendenten wieder: 10 Stunden nach Injektion von ^{3}H-Thymidin traten die ersten markierten Mitosen der A_1-Spermatogonien auf. Das bedeutete, daß die ersten der in der S-Phase markierten A_1-Spermatogonien die G2-Phase durchlaufen und ihre Teilung begonnen hatten. 12 Stunden nach

der Injektion waren schon 100 % der A_1-Mitosen markiert. Die Kurve fiel dann wieder auf 0 % markierte Mitosen ab. Zu diesem Zeitpunkt hatten alle markierten A_1-Spermatogonien die Mitose durchlaufen. Die aus ihnen entstandenen A_2-Spermatogonien durchliefen ihrerseits nach einer gewissen Zeit die Mitose und wurden zu A_3-Spermatogonien. Anhand der Kurve ließ sich nun die Lebensdauer der Generationszeit der A_2-Spermatogonien bestimmen: sie ist nämlich gleich dem Intervall zwischen A_1- und A_2-Mitosemaximum. Sie belief sich in diesem Fall auf 39 Stunden. Außerdem ließ sich aus der ersten Maximumkurve der Wert für die S-Phasen-Dauer der A_1-Spermatogonien ermitteln. Sie ist gleich dem Intervall zwischen den auf halber Höhe der Kurve liegenden Punkten des ansteigenden und des absteigenden Schenkels. Bei den A_1-Spermatogonien entsprach dieses Intervall der 50 % Breite der ersten Kurve. Ihre S-Phasen-Dauer zeigte einen Wert von 19,5 Stunden.

Bei Anwendung der Methode der markierten Mitosen von Quastler und Sherman (1959) wird der Injektionstermin konstant gehalten, und die Tötungstermine variieren.

Dieses Prinzip wurde in der vorliegenden Arbeit modifiziert: man hielt den Tötungstermin konstant und variierte die Injektionstermine. Das Verfahren der markierten Mitosen wurde also umgekehrt.

Resultate

In den Tabellen 1, 2 und 3 sind bei jedem der 19 Feten die Prozentsätze markierter Wandzellenmetaphasen pro Tötungstermin angegeben:
in Tabelle 1 für alle Wandzellen, innere wie äußere,
in Tabelle 2 für die innere Wandzellenfraktion und
in Tabelle 3 für die äußere Wandzellenfraktion.
Dazu ist je Injektionstermin t der arithmetische Mittelwert der markierten Mitosen errechnet, seine Standardabweichung und sein Vertrauensbereich, jeweils absolut und relativ.

In den Figuren 1, 2 und 3, die anhand der Tabellen 1, 2 und 3 erstellt wurden, ist der zeitliche Verlauf der markierten Metaphasen der Wandzellen wiedergegeben:
Figur 1 betrifft alle Wandzellen, innere wie äußere,
Figur 2 nur die innere Wandzellenfraktion,
Figur 3 nur die äußere Wandzellenfraktion.

Die S-Phasen-Dauer wurde nach dem "Halbe-Höhe-Verfahren" bestimmt, d.h. es wurde die jeweilige Strecke zwischen den beiden Punkten auf halber Höhe des ansteigenden und des absteigenden Schenkels der Kurve abgelesen. Die gemessenen Strecken, die den jeweiligen Zeitintervallen zwischen beiden Punkten entsprechen, geben die betreffenden Werte für die S-Phasen-Dauer wieder.

Folgende Werte für die S-Phasen-Dauer der Wandzellen

wurden gefunden:

6,75 Std für alle Wandzellen, innere wie äußere,

6,55 Std für die innere Wandzellenfraktion,

7,50 Std für die äußere Wandzellenfraktion.

Da die Werte für die S-Phasen-Dauer anhand des Verlaufes jeder einzelnen Kurve bestimmt worden sind, ist der Wert für die S-Phasen-Dauer aller Wandzellen nicht gleich dem Mittelwert der S-Phasen-Dauer der inneren und äußeren Wandzellenfraktion.

Diskussion

Nach den vorliegenden Untersuchungen beträgt die S-Phasen-Dauer der Wandzellen am 17. Fetaltag 6,75 Std. Dieser Wert liegt etwa in der gleichen Größenordnung wie der von Hemmerling und Odendahl (1976) mit der Methode der Doppelmarkierung gefundene Wert von 5 - 7 Std an den Fetaltagen 18, 19 und 20, differiert aber um etwa 2 - 3 Std von dem von Lugani-Mehta (1980) angegebenen Wert von 9,2 Std am 19. Fetaltag. Da dem von Lugani-Mehta (1980) gewonnenen Wert die größere Aussagekraft zukommt - die Problematik der S-Phasen-Dauer-Bestimmung fetaler Stütz- und Wandzellen ist in den Arbeiten von Kaiser (1976) sowie Hemmerling und Odendahl (1976) ausführlich diskutiert worden - muß davon ausgegangen werden, daß die Differenz von 2 - 3 Std zwischen dem eigenen, in dieser Arbeit dokumentierten Wert und dem Wert von Lugani-Mehta (1980) eine objektive Gegebenheit wiedergibt, zumal in beiden Arbeiten mit ähnlichen Methoden gearbeitet wurde.

Als Gründe für den niedrigeren eigenen Wert von 6,75 Std und den höheren von Lugani-Mehta (1980) gefundenen Wert von 9,2 Std kommen infrage:

(1) der frühere Zeitabschnitt in der Entwicklung der Wandzellen, der in der vorliegenden eigenen Arbeit untersucht wurde. Es ist bekannt, daß somatische Zellen während der Primitiv-

entwicklung, d.h. in der Embryonalperiode, sehr rasch proliferieren (Snow 1976). Dieses Argument würde gut mit dem Befund von Eigel (1974) übereinstimmen, wonach die S-Phasen-Dauer der postnatal proliferierenden Zellen bei etwa 11,5 Std liegt. Die S-Phasen-Dauer würde demnach während der Entwicklung des Wandzellensystems allmählich zunehmen, und zwar pränatal stärker als postnatal;

(2) zirkadian bedingte Schwankungen der S-Phasen-Dauer. Bedingt durch die angewendete Methode wurde die S-Phasen-Dauer in der vorliegenden Arbeit im Bereich der späten Nacht- und Morgenstunden bestimmt, in der Arbeit von Lugani-Mehta (1980) im Bereich der Nachmittags- und Abendstunden.

Sehr interessant ist der Befund, daß der Wert für die S-Phasen-Dauer der inneren Wandzellenfraktion niedriger ist als der Wert für die äußere Fraktion. Im Zusammenhang mit dem Befund von Hemmerling und Odendahl (1976), wonach der Mitose-Index der inneren Wandzellenfraktion höher ist als der der äußeren, bedeutet dies, daß die inneren Wandzellen stärker proliferieren als die äußeren.

Zusammenfassung

Am 17. Fetaltag durchgeführte autoradiographische Untersuchungen zur Bestimmung der S-Phasen-Dauer der Wandzellen in den Testes von Rattenfeten mit Hilfe eines modifizierten Verfahrens der Methode der markierten Mitosen von Quastler und Sherman (1959) haben ergeben, daß:

(1) die Dauer der DNS-Synthese-Phase (S-Phasen-Dauer) für alle Wandzellen, innere wie äußere, 6,75 Std beträgt,

(2) die S-Phasen-Dauer der inneren Wandzellenfraktion mit 6,55 Std niedriger ist als die der äußeren mit 7,50 Std.

Aus (1) darf bei Berücksichtigung der Ergebnisse von Eigel (1974) und Lugani-Mehta (1980) gefolgert werden, daß die S-Phasen-Dauer der pränatal proliferierenden Wandzellen wesentlich kürzer ist als die der postnatal proliferierenden, daß die S-Phasen-Dauer während der Entwicklung des Wandzellensystems allmählich zunimmt, und zwar pränatal stärker als postnatal.

Aus (2) ergibt sich im Zusammenhang mit dem Befund von Hemmerling und Odendahl (1976), daß die inneren Wandzellen stärker proliferieren als die äußeren.

Literatur

Baker, G.T.:
Gametogenesis.
Acta endocr. (Kbh.), Suppl. 166, 13-41 (1972).

Brandenbusch, I.:
Vergleichende autoradiographische Untersuchungen zur Kinetik fetaler weiblicher und männlicher Gonien des Modelltiers Ratte zwischen den Tagen 15.6 und 17.0 post conceptionem (p.c.).
Inaug. Diss., Düsseldorf, 1980.

Bucher, O.:
Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
Huber Verlag, Bern, 9. Auflage (1977).

Buston-Obregon, E.:
Description of the boundary tissue of human seminiferous tubules in normal and pathological conditions.
68. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft in Lausanne, 8.-12.4.1973.

Clermont, Y.:
Contractile elements in the limiting membrane of the seminiferous tubules of the rat.
Exptl. Cell Res. 15, 438 (1958).

Courot, M., Hocherau - de Reviers, M.T. and Ortavant, R.:
Spermatogenesis.
In: The Testis I, Ed. by A.D. Johnson, W.R. Gomes and N. L. van Demark, vol.1, New York: Academic Press 1970.

Diab, I.M. and Roth, L.J.:
Autoradiographic Differentiation of Free, Bound, Pure and Impure Thymidine $^{3}H^{1}$.
Stain Technology 45, 285-291 (1970).

Eigel, Th.:
Histologische und autoradiographische Untersuchungen der Wandzellen der Wistarratte während der Evolution der II-Gonocyten.
Inaug. Diss., Düsseldorf, 1974.

Goslar, H.G., Passia, D., Hilscher, W. und Hilscher, B.:
Enzymhistochemische Untersuchungen zur Kinetik des inter- und peritubulären Leydigzellsystems der Ratte.
Acta histochemica, Suppl.-Band XXI, S. 243-246 (1980).

Haug, H.:
Probleme und Methoden der Strukturzählung im Schnittpräparat.
In: Symposion über quantitative Methoden in der Morphologie, 8. Anatom. Kongress, Wiesbaden 1965.
Ed. E.R. Weobel and H. Elias, Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 1967.

Hemmerling, I. und Odendahl, Th.:
Beiträge zur Kinetik der Wandzellen während der Evolution der T_1-Prospermatogonien; histologische und autoradiographische Untersuchungen an den männlichen Gonaden von Rattenfeten (Wistarratten). Inaug. Diss., Düsseldorf, 1976.

Hilscher, W.:
Der Proliferationsmodus des Samenepithels.
In: Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie, 50. Tagung in Heidelberg vom 26.-30.4.1966, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1966.

Hilscher, B., Hilscher, W., Delbrück, G. und Lerouge-Bénard, B.:
Autoradiographische Bestimmung der S-Phasen-Dauer der Gonocyten bei der Wistarratte durch Einfach- und Doppelmarkierung.
Z. Zellforsch. 125, 229-251 (1972).

Hilscher, B., Hilscher, W., Bülthoff-Ohnholz, B., Krämer. U., Pelzer, H. und Gauss, G.:
Kinetics of gametogenesis.
I. Comparative histological and autoradiographic studies of oocytes and transitional prospermatogonia during oogenesis and prespermatogenesis.
Cell. Tiss. Res. 154, 443-470 (1974).

Hilscher, W. und Hilscher, B.:
Kinetics of the male gametogenesis.
Andrologia 8, 105-116 (1976).

Hilscher, B. und Hilscher, W.:
Kinetics of gametogenesis.
II. Comparative autoradiographic studies of oogonia and multiplying prospermatogonia of the wistar rat.
Cell. Tiss. Res. 190, 61-68 (1978).

Hilscher, W. und Brandenbusch, I.:
Enzymhistochemische und autoradiographische Untersuchungen der Oogonien und M-Prospermatogonien der Ratte.
74. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft in Regensburg, 26.-30.3.1979.

Hollweg, S.:
Autoradiographische Bestimmung der Dauer der DNS-Verdopplung und des Generationszyklus sowie der anderen Teilphasen des Zyklus bei fetalen Zellarten der Ratte.
Inaug. Diss., Köln, 1966.

Hovatta, O.:
Contractility and structure of adult rat seminiferous tubules in organ culture.
Z. Zellforsch. 130, 171-179 (1972).

Hovatta, O.:
Effect of androgens and antiandrogens on the development of the myoid cells of the rat seminiferous tubules (organ culture).
Z. Zellforsch. 131, 299-308 (1972).

Kaiser, K.:
Beiträge zur Kinetik der Stützzellen während der Evolution der T_1-Prospermatogonien; autoradiographische Untersuchungen an den Keimsträngen von Wistarratten.
Inaug. Diss., Düsseldorf, 1976.

Kormano, M.:
The development and function of the peritubular tissue in the rat testis.
Morphological aspects of andrology 1, 86-89 (1970).

Kormano, M.:
Untersuchungen über den Bau und die Funktion der Wand des intratestikulären Kanälchensystems.
68. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft in Lausanne, 8.-12.4.1973.

Lacy, D. and Rotblad, J.:
Study of normal and irridated boundary tissue of the seminiferous tubules of the rat.
Exptl. Cell Res. 21, 49-70 (1960).

Leblond, C.P. and Clermont, Y.:
Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 55, 548-573 (1952).

Leeson, C.R. and Leeson, T.S.:
The postnatal development and differentiation of the boundary tissue of the seminiferous tubule of the rat.
Anat. Record 147, 242-260 (1963).

Lippers, F.:
Beiträge zur Kinetik der Stützzellen und Wandzellen während der Evolution der II-Gonocyten; histologische und autoradiographische Untersuchungen an den Hoden von Wistarratten.
Inaug. Diss., Düsseldorf, 1973.

Lugani-Mehta, S.:
Autoradiographische Untersuchungen zur Kinetik der fetalen Stützzellen und Wandzellen im Rattentestis am Tage 19 post conceptionem.
Inaug. Diss., Düsseldorf, 1980.

Maurer, W. und Primbsch, E.:
Größe der ß-Selbstabsorption bei ^{3}H-Autoradiographie.
Exp. Cell Res. 33, 8-18 (1964).

Nebel, W.:
Autoradiographische Untersuchungen zur Kinetik des intertubulären, fetalen Leydigzellsystems der Ratte.
Inaug. Diss., Düsseldorf, 1978.

Oldham, K.G.:
Problems in the Radiometric Assessment of Protein and Nucleic Acid Synthesis.
Analytical Biochemistry 44, 143-153 (1971).

Quastler, H. and Sherman, F.G.:
Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse.
Exp. Cell Res. 17, 420-438 (1959).

Quastler, H.:
The analysis of cell proliferation kinetics.
In: Cell proliferation, p.25, Eds. L.F. Lamerton and R.J.M. Fry, Blackwell Scientific Publications, Oxford (1963).

Rehme, P.:
Histologische Untersuchungen zur Kinetik der Oogonien und Prospermatogonien sowie der Stützzellen und Wandzellen am Modelltier Ratte.
Inaug. Diss., Düsseldorf, 1978.

Smith, C.L. and Dendy, p.:
Relation between mitotic index, duration of mitosis, generation time and fraction of dividing cells in a cell population.
Nature (London) 193, 555-556 (1962).

Snow, M.H.L.:
Embryo growth during the immediate postimplantation period.
In: Embryogenesis in mammals - Amsterdam, Oxford, New York: Elsevier 1976, pp. 53-70.
= Ciba Foundation Symposion 40, new series.

Wand, M., Zeuthen, E. and Evans, E.A.:
Tritiated Thymidine: Effect of Decomposition by Self-Radiolysis on Specifity as a Tracer DNA Synthesis.
Science 157, 436-438 (1967).

Wegener, K., Hollweg, S. und Maurer, W.:
Autoradiographische Bestimmung der Dauer der
DNS-Verdopplungszeit und anderer Teilphasen
des Zellzyklus bei fetalen Zellarten der Ratte.
Z. Zellforsch. 63, 309-326 (1964).

Legenden

zu den Abbildungen, Tabellen und Figuren

Abbildungen	1 - 6
Tabellen	1 - 3
Figuren	1 - 3

Abb. 1 Zeitlicher Verlauf des kleinen (mi) Mitose-Index der Wandzellen

Vergleichskurven: Lippers (1974)
Eigel (1974)

Aus: Rehme (1978)

Abb. 2 Zeitlicher Verlauf des kleinen (mi) und großen (Mi) Mitose-Index der Wandzellen

Vergleichskurven: Eigel (1978)

Aus: Rehme (1978)

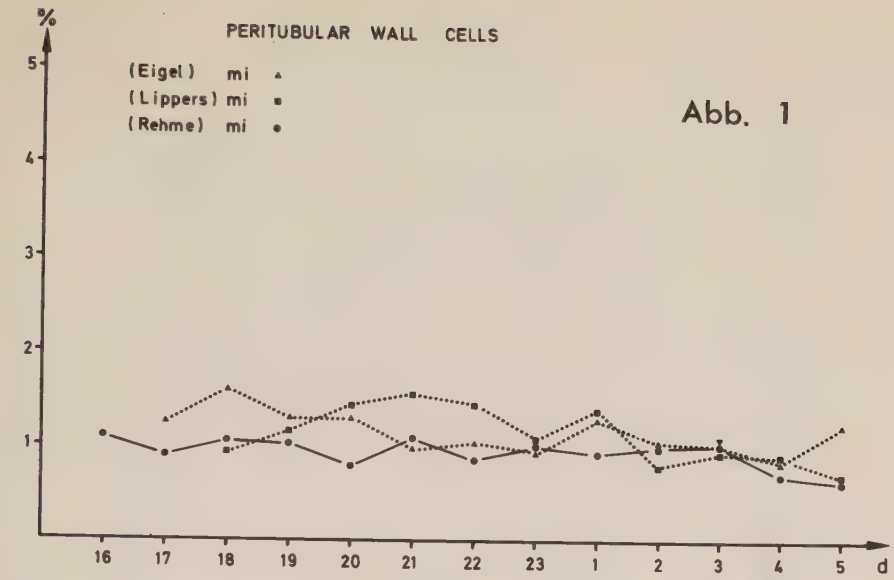

%
PERITUBULAR WALL CELLS
(Eigel) mi
(Lippers) mi
(Rehme) mi
5
4
3
2
1
16
17
18
19
20
21
22
23
1
2
3
4
5
d

Abb. 1

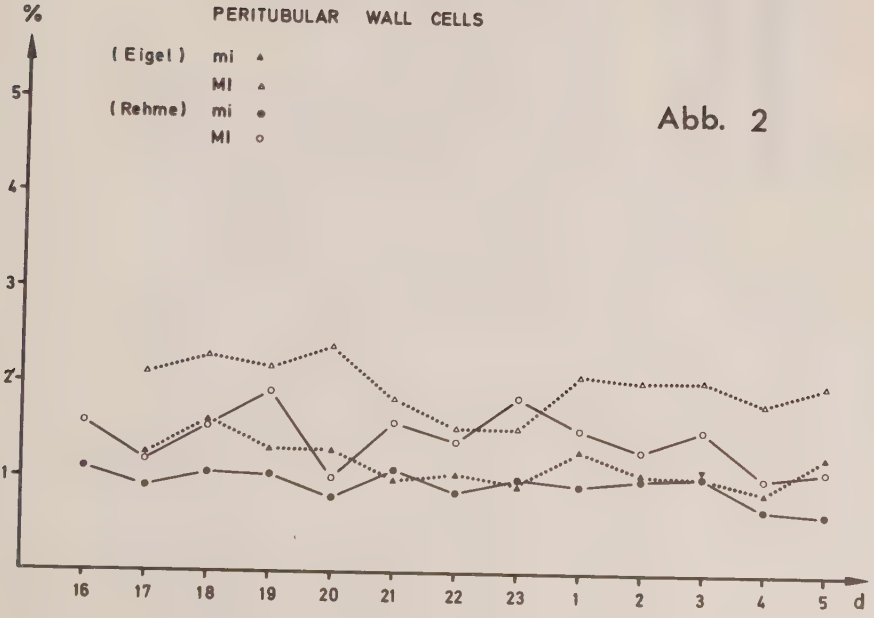

%
PERITUBULAR WALL CELLS
(Eigel) mi
MI
(Rehme) mi
MI
5
4
3
2
1
16
17
18
19
20
21
22
23
1
2
3
4
5
d

Abb. 2

Abb. 3 (A) S-Phasen-Dauer der pränatal proliferierenden Wandzellen am Tage 20 p.c.. Die erste helle Säule gibt den Wert für die S-Phasen-Dauer der inneren Wandzellenfraktion wieder, die zweite helle Säule den Wert aller wandzellen und die dritte helle Säule den Wert der äußeren Wandzellenfraktion.

Aus: Hemmerling und Odendahl (1976)

(B) S-Phasen-Dauer der postnatal proliferierenden Wandzellen:

(1) bestimmt nach der Methode der Doppelmarkierung mit "schwach" und "stark" ^{3}H-Thymidin in der Zeit zwischen unmittelbar p.p. und 5 Tagen p.p. (helle Säulen)

(2) bestimmt nach der Methode der Doppelmarkierung mit ^{14}C- und ^{3}H-Thymidin, 5 Tage p.p. (Säule mit kleinen Kreisen)

(3) bestimmt nach der Methode der markierten Mitosen (Abstand-Halbe-Höhe-Verfahren), 5 Tage p.p. (schraffierte Säule)

Aus: Eigel (1974)

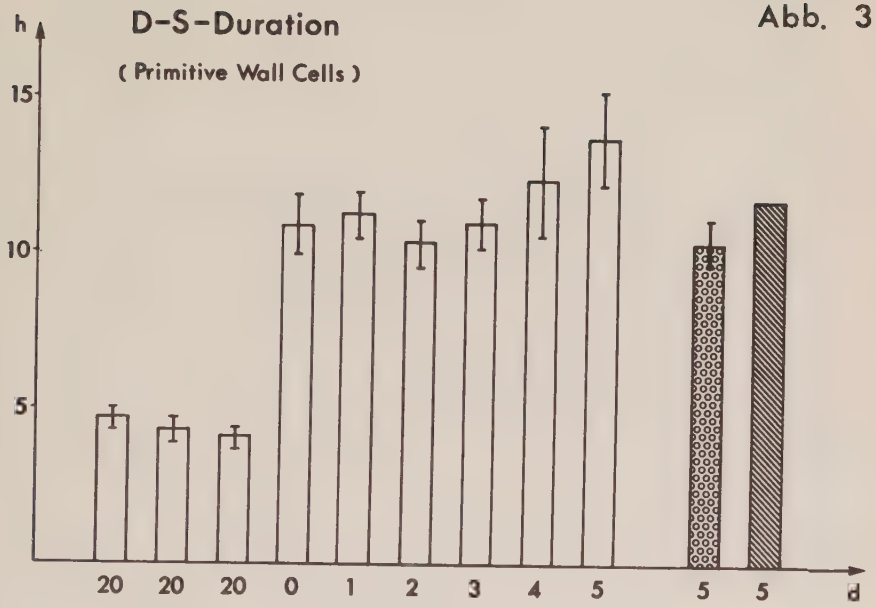

D-S-Duration
(Primitive Wall Cells)
Abb. 3
h
15
10
5
20
20
20
0
1
2
3
4
5
5
5
d

Abb. 4 Zeitlicher Verlauf der Prozentsätze markierter Metaphasen der Wandzellen. Pro Punkt (x) wurden 100 Metaphasen bestimmt. Die vorliegende Markierungskurve wurde 5 mal "geglättet".

Aus: Eigel (1974)

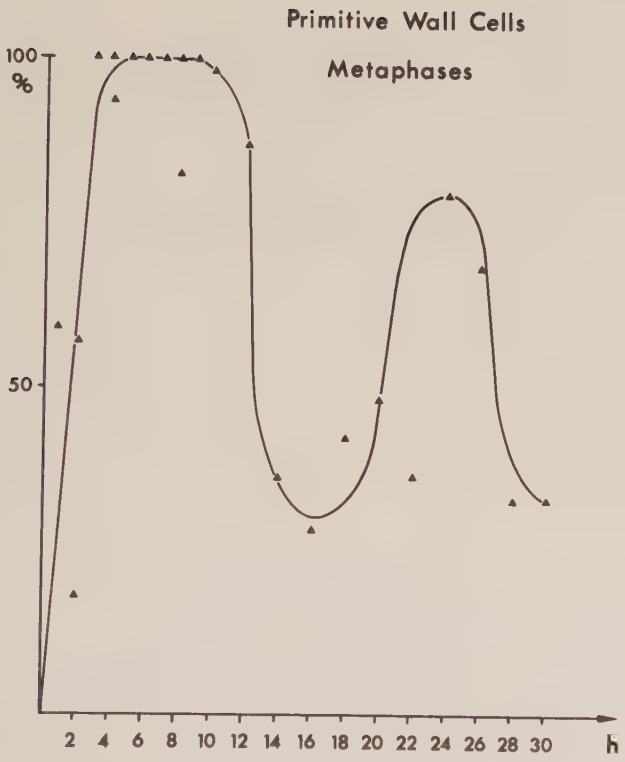

Primitive Wall Cells
Metaphases
100
%
50
2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
h

Abb. 4

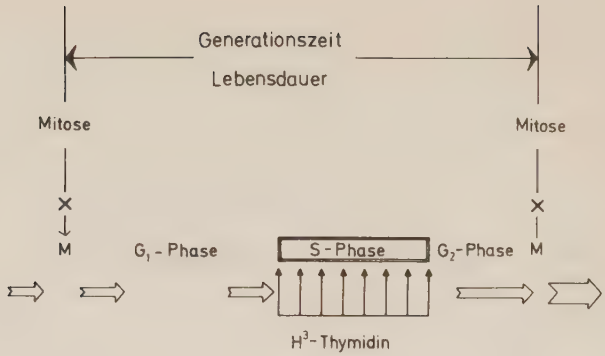


Abb. 5

Schema 2
Teilphasen G-1, S, G-2 und M, die eine proliferierende Zelle während ihrer Generationszeit durchläuft.

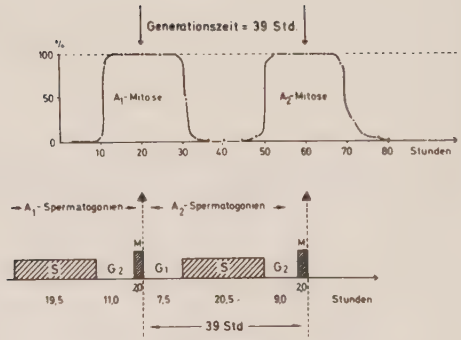


Abb. 6

Schema 3
Methode der markierten Mitosen,
gezeigt am Beispiel
der in der S-Phase markierten A_1-Spermatogonien.

t (h)	% m. Mit.	Mittelwert (arithmet.)	Standardabweichung absol.	Standardabweichung relat. %	Vertrauensbereich des MW absolut	Vertrauensbereich des MW relativ %
2	70,5 63,9 67,6	67,2	± 3,6	5,3	58,5 75,9	13,0
4	71,8 79,2	75,5	± 5,2	6,9	27,9 123,1	63,0
6	69,1 70,2 67,9	69,1	± 1,2	1,7	66,3 71,9	4,1
8	32,2 37,8 40,6	36,9	± 4,3	11,6	26,4 47,3	28,3
10	38,7 38,2 32,1	36,3	± 3,7	10,1	27,4 45,3	24,7
12	33,9 32,4	33,2	± 1,1	3,2	23,5 42,8	29,1
14	59,8 67,0 62,9	63,2	± 3,6	5,7	54,4 72,0	13,9

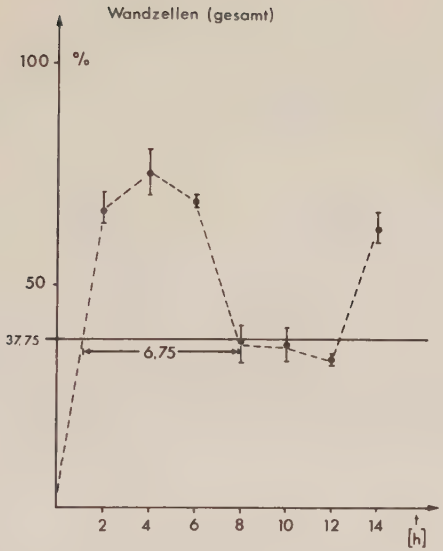
Tabelle 1: Relative Häufigkeiten der markierten Mitosen aller Wandzellen, innerer wie äußerer, deren Mittelwerte, Standardabweichungen und Vertrauensbereiche am 17. Tag p.c. 2 bis 14 Stunden nach einmaliger Injektion von ^{3}H-Thymidin

t (h)	% m. mit.	Mittelwert (arithmet.)	Standardabweichung absol.	relat. %	Vertrauensbereich des MW absolut	relativ %
2	67,4 65,2 63,6	65,4	± 1,9	2,9	60,7 70,1	7,1
4	74,5 76,5	75,5	± 1,5	2,0	62,0 89,1	17,9
6	80,0 74,2 67,9	74,0	± 6,1	8,2	59,3 88,8	19,9
8	31,8 30,8 36.7	33,1	± 3,2	9,5	25,4 40,8	23,3
10	38.9 39,4 29,3	35,9	± 5,7	15,9	22,0 49,8	38,7
12	38.2 29,3	33,8	± 6,3	18,6	-23,5 91,0	169,6
14	53,1 75.0 66,7	64,9	±11,1	17,0	98,0 92,0	41,6

Tabelle 2: Relative Häufigkeiten der markierten Mitosen innerer Wandzellen, deren Mittelwerte, Standardabweichungen und Vertrauensbereiche am 17. Tag p.c. 2 bis 14 Stunden nach einmaliger i.p. Injektion von ^{3}H-Thymidin

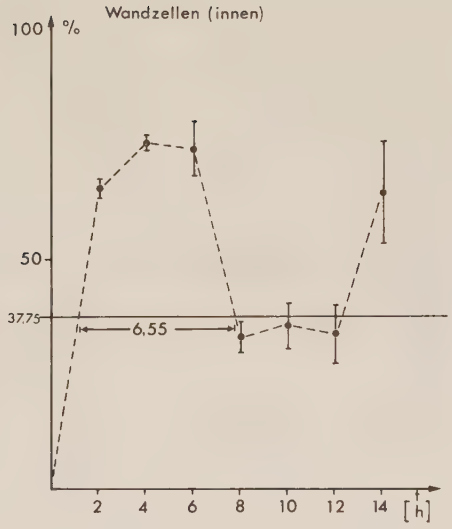
t (h)	% m. Mit.	Mittelwert (arithmet.)	Standardabweichung absol.	Standardabweichung relat. %	Vertrauensbereich des MW absolut	Vertrauensbereich des MW relativ %
2	72,4 63,1 70,1	68,5	± 4,8	7,1	56,7 80,4	17,2
4	68,8 81,4	75,1	± 8,9	11,9	- 5,9 156,1	107,9
6	65,0 68,7 67,9	67,2	± 1,9	2,9	62,4 72,0	7,1
8	32,4 40,0 42,1	38,2	± 5,1	13,4	25,7 50,6	32,6
10	38,7 37,7 33,8	36,7	± 2,6	7,0	30,4 43,1	17,2
12	32,2 34,4	33,3	± 1,6	4,7	19,2 47,4	42,5
14	62,7 63,8 61,9	62,8	± 1,0	1,5	60,5 65,1	3,7

Tabelle 3: Relative Häufigkeiten der markierten Mitosen äußerer Wandzellen, deren Mittelwerte, Standardabweichungen und Vertrauensbereiche am 17. Tag p.c. 2 bis 14 Stunden nach einmaliger i.p. Injektion von ^{3}H-Thymidin



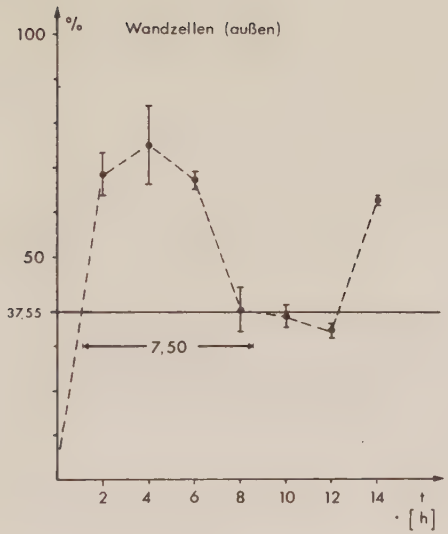
Figur 1: Zeitlicher Verlauf aller markierten Wandzellenmetaphasen, innerer wie äußerer

(Mittelwerte der Prozentsätze markierter Mitosen aller Wandzellen, innerer wie äußerer, am 17. Tag p.c. 2 bis 14 Stunden nach einmaliger i.p. Injektion von ^{3}H-Thymidin)



Figur 2: Zeitlicher Verlauf der markierten Metaphasen der inneren Wandzellen

(Mittelwerte der Prozentsätze markierter Mitosen der inneren Wandzellenfraktion, am 17. Tag p.c. 2 bis 14 Stunden nach einmaliger i.p. Injektion von ^{3}H-Thymidin)



Figur 3: Zeitlicher Verlauf der markierten Metaphasen der äußeren Wandzellen

(Mittelwerte der Prozentsätze markierter Mitosen der äußeren Wandzellenfraktion, am 17. Tag p.c. 2 bis 14 Stunden nach einmaliger i.p. Injektion von ^{3}H-Thymidin)

Herrn Prof. Dr. H.-W. Schlipköter möchte ich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes danken.

Herrn Prof. Dr. W. Hilscher danke ich an dieser Stelle ganz besonders für die Überlassung des Themas, für die großzügige Förderung bei der Durchführung der Untersuchungen und für seine wertvollen Anregungen und Ratschläge.

Frau B. Hilscher danke ich ganz herzlich für die große Unterstützung und stets freundliche Hilfe.

LEBENSLAUF

Am 23. April 1949 wurde ich als Sohn des Direktors Paul Schmitt und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Meyer, in Gelsenkirchen geboren.

1955 wurde ich in die Volksschule Dortmund-Gartenstadt eingeschult, von 1956 besuchte ich nach einem Wohnungswechsel nach Hagen die dortige kath. Eickert-Schule. 1959 wechselte ich auf das Staatliche Albrecht-Dürer-Gymnasium (altsprachliches Gymnasium) in Hagen, an dem ich am 27. 5. 1968 meine Reifeprüfung ablegte.

Im WS 1968/69 immatrikulierte ich mich an der Universität Münster in der Naturwissenschaftlichen Fakultät (Fachbereich Chemie). Zum SS 1969 wechselte ich an die Ruhr-Universität Bochum zum Studium der Wirtschaftswissenschaften und bestand in dieser Fakultät am 30. 10. 1974 die Diplom-Prüfung.
Zum SS 1974 erhielt ich dann einen Studienplatz im Fach Medizin an der Westfälischen Wilhelms-Universität in Münster. Dort bestand ich am 26. 3. 1976 die ärztliche Vorprüfung (Physikum) und absolvierte ebenfalls in Münster am 23. 5. 1980 die ärztliche Prüfung (Staatsexamen).

Karl-Josef Schmitt